Journal of Horticultural Science
Vol. 34, No.1, Spring 2020, P. 45-59
ISSN: 2008 - 4730

نشریه علوم باغبانی (علوم و صنایع کشاورزی)
جلد ۳۴، شماره ۱، بهار ۱۳۹۹، ص. ۵۹-۴۵
شاپا: ۴۷۳۰ - ۲۰۰۸

مقاله علمی-پژوهشی

بررسی اثر سطوح مختلف کود اوره و منابع مختلف کود آهن بر عملکرد کمی و کیفی به‌لیمو (*Lippia citriodora* H. B. & K.)

مریم حیدرزاده[1]- غلامرضا زارعی[2]*- ابوالفضل مروتی[3]

تاریخ دریافت: ۱۳۹۷/۱۱/۲۴
تاریخ پذیرش: ۱۳۹۸/۱۲/۱۴

چکیده

به‌لیمو (*Lippia citriodora* H. B. & k.) از گیاهان دارویی ارزشمندی است که اسانس آن در صنایع دارویی، غذایی، آرایشی و بهداشتی کاربرد دارد. این آزمایش به منظور بررسی اثر سطوح مختلف کود اوره و انواع کودهای آهن بر عملکرد کمی و کیفی به‌لیمو در سال ۱۳۹۶ در باغ فتح آباد کرمان اجرا شد. آزمایش به صورت فاکتوریل در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی در سه تکرار انجام شد. تیمارها شامل کود اوره در چهار سطح صفر (شاهد)، ۱۰۰، ۱۵۰ و ۲۰۰ کیلوگرم در هکتار و منابع مختلف کود آهن شامل عدم استفاده (شاهد)، سولفات آهن ۱۷ درصد به میزان ۱۰ کیلوگرم در هکتار، نانو کلات آهن ۹ درصد به میزان ۵ کیلوگرم در هکتار و کلات آهن اورتو ۴/۸ درصد به میزان ۱۰ کیلوگرم در هکتار در نظر گرفته شدند. صفات مورد اندازه‌گیری شامل ارتفاع گیاه، وزن تر و خشک برگ در بوته، تعداد شاخه، میزان کلروفیل و کمیت و کیفیت اسانس بودند. نتایج نشان داد که سطوح مختلف اوره و منابع مختلف آهن بر کلیه صفات اثر معنی‌دار داشت. تیمار ۱۵۰ کیلوگرم اوره در هکتار بیشترین تأثیر را بر صفات اندازه‌گیری شده نسبت به شاهد داشت. در مجموع استفاده توام ۱۵۰ کیلوگرم در هکتار اوره به همراه کلات اورتو آهن بالاترین عملکرد کمی و کیفی، محتوای کلروفیل (۳۵ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر) و درصد اسانس (۱/۳ درصد) را ایجاد نمود. همبستگی مثبت و معنی‌داری بین محتوای کلروفیل برگ‌ها با صفات رویشی و اسانس ملاحظه شد. در ارزیابی کیفی اسانس، ۲۰ ترکیب شیمیایی شناسایی شد که دو ترکیب ژرانیال و نرال اجزای غالب بودند که کمترین میزان این ترکیبات در شاهد (۳۳/۸ درصد) و بالاترین میزان این ترکیبات در تیمار ۱۵۰ کیلوگرم کود اوره همراه با کلات آهن اورتو (۴۴/۹ درصد) مشاهده گردید.

واژه‌های کلیدی: اسانس، ژرانیال، کلات آهن، نرال، نیتروژن

مقدمه

گیاه به‌لیمو با نام علمی *Lippia citriodora* H. B. & K. از خانوادهٔ شاه‌پسند (Verbenaceae) بومی آمریکای جنوبی بوده و درختچه‌ای همیشه سبز و برافراشته به ارتفاع حدود ۱/۵ تا ۲ متر با برگ‌های سرنیزه‌ای به طول ۷ تا ۱۰ سانتی‌متر است. از برگ‌های این گیاه آن بوی خوشایند لیمو به مشام می‌رسد (۸). به‌لیمو یکی از گیاهان دارویی ارزشمندی است که به عنوان یک گیاه معطر کشت و مورد استفاده قرار می‌گیرد. برگ گیاه به‌لیمو به عنوان اندام مورد استفاده این گیاه دارای خواص ضدتشنج، ضدانقباض، تب بر و آرام بخش بوده و دارای سابقه‌ای طولانی در درمان آسم، اسپاسم، سرماخوردگی، سردرد، تب، نفخ، اسهال، سوء هاضمه، بی‌خوابی و اضطراب می‌باشد (۳۱). اسانس این گیاه دارای اثرات ضداسهال، مدر، ضدمیکروبی علیه میکروفلور دندان، آرام‌بخش، ضد تب و مهار اثر تحریک‌کنندگی هیستامین می‌باشد. برگ علاوه بر اسانس حاوی آلکالوئید، فلاونوئید، موسیلاژ، تانن و فنل‌های اسیدی است. با وجود دارا بودن کلیه این ترکیب‌ها، مهمترین ماده موثره موجود در این گیاه اسانس می‌باشد (۵۷) کاربرد اسانس گیاهان دارویی در صنایع مختلف به ترکیب های شیمیایی موجود در آن بستگی دارد که خود تحت تأثیر عوامل محیطی، زمان برداشت، شر ایط کشت و روش‌های زراعت می‌باشد (۴۰). اسانس به‌لیمو دارای ترکیبات مختلفی است که عمده‌ترین آنها ژرانیال، نرال و لیمونن (۲۱) می‌باشد. ترکیبات عمده اسانس در سایر مطالعات بتا-کاریوفیلن، ۱و۸-سینئول، سیترونلول، ایزومنتون، آلفا-برگاموتن و پارا-سیمن (۳)، ژرانیال، نرال، لیمونن، ۱و۸-سینئول و بتا-پینن (۵۷)، ژرانیال، نرال، اسپاتولنول، گاما-المن و گلوبولول (۱۷) و اسپاتولنول، کاریوفیلن اکسید، سیترال، بتا-کاریوفیلن و لیمونن (۲) گزارش شده است.

۱، ۲ و ۳- به‌ترتیب دانش‌آموخته کارشناسی ارشد زراعت، استادیار و مربی، گروه زراعت، واحد میبد، دانشگاه آزاد اسلامی، میبد، ایران
(*- نویسنده مسئول: Email:zareigholamreza@gmail.com)
DOI: 10.22067/jhorts4.v34i1.78875

مقدار نیتروژن در گیاهان بعد از کربن و هیدروژن بیش از سایر عناصر غذایی است (۲۶). نیتروژن مهم‌ترین عنصر در اصلاح وضعیت مواد غذایی خاک بوده و بیشترین اثرات را از نظر افزایش تولید محصول داشته است (۳۴). آهن از عناصر کم مصرف اما بسیار ضروری برای گیاهان است که در بسیاری از فرآیندهای فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی گیاهان همچون ساخت کلروفیل و تنظیم فعالیت آنزیم ها دخالت دارد. اگرچه آهن به مقدار زیادی در خاک وجود دارد، اما شرایط نامساعد خاک (همچون pH بالا) باعث غیرقابل جذب شدن آن برای ریشه گیاه می گردد (۴۷). بنابراین لازم است که آهن مورد نیاز گیاه به شکل محلول در دسترس گیاه قرارگیرد که عمدتاً از طریق کلات‌های آهن امکان پذیراست (۱۳). کلاتEDDHA[1] با درصد اورتو–اورتو بالا (۴/۸ درصد)، دارای حلالیت بالایی بوده و یکی از مقاوم ترین کلات ها در برابر شرایط نامساعد خاک است که می تواند تضمین کننده جذب آهن توسط ریشه باشد (۱۰). این کودها در دامنه وسیعی از pH پایداری داشته، بنابراین در خاک‌های ایران که عمدتاً خاک‌هایی با واکنش قلیائی می‌باشند اثر بخشی خوبی دارند (۴۴).

تاکنون در مورد اثر کودهای شیمیایی بر خصوصیات کمی و کیفی گیاهان دارویی تحقیقات زیادی صورت گرفته است. زارع و همکاران (۵۷) عملکرد، کمیت و کیفیت اسانس گیاه دارویی به لیمو را تحت تاثیر مصرف متعادل کود و پلیمر سوپرجاذب ارزیابی کردند. نتایج نشان داد که بیشترین عملکرد صفات رویشی در مصرف متعادل کود شیمیایی، کود زیستی و پلیمر سوپر جاذب بدست می‌آید. بیشترین میزان اسانس و بیشترین مجموع ترکیب ژرانیال و نرال در مصرف متعادل کود شیمیایی و کود زیستی به دست آمد. عبادی و همکاران (۱۷) تاثیر کودهای آلی و شیمیایی بر عملکرد برگ، درصد و اجزای اسانس به‌لیمو را بررسی نمودند. نتایج نشان داد که بیشترین عملکرد برگ و میزان اسانس مربوط به تیمار استفاده از ۳۰ درصد ورمی‌کمپوست و کمترین مربوط به شاهد بود. در بررسی اجزای اسانس، بیشترین میزان سیترال (مجموع دو ترکیب نرال و ژرانیال) متعلق به تیمار کود کامل و بیشترین میزان لیمونن و سینئول در تیمار ۳۰ درصد ورمی‌کمپوست مشاهده شد. بررسی سطوح مختلف نیتروژن و محلول پاشی آمینوکلات آهن بر عملکرد و ویژگی‌های رشد گیاه دارویی شوید، نشان داده است که کودهای نیتروژن و آهن صفات مورفولوژیک و ارتفاع را به طور معنی‌داری افزایش داده است (۲۵). در پژوهشی دیگر تأثیر محلول پاشی نانو کلات آهن و پتاسیم بر عملکرد کمی و کیفی گیاه اسفرزه بررسی شد که نتایج نشان داد که کاربرد نانو کلات آهن و پتاسیم در افزایش بهره‌وری گیاه دارویی اسفرزه نقش مثبت ایفا می‌کند (۱).

این پژوهش با هدف دستیابی به بهترین سطح کود نیتروژن و نوع کود آهن جهت مدیریت بهینه کشت گیاه دارویی به‌لیمو، در جهت رسیدن به حداکثر عملکرد کمی و کیفی در شرایط آب هوایی استان کرمان به اجرا درآمد.

مواد و روش‌ها

این تحقیق در سال زراعی ۹۶ - ۹۵ در باغ فتح آباد واقع در شمال غربی کرمان در فاصله ۱۲ کیلومتری شهر انجام پذیرفت. شهر کرمان با ارتفاع ۱۷۵۵ متر از سطح دریا در طول جغرافیایی ۵۷ درجه و ۵ دقیقه و ۱۶ ثانیه و عرض جغرافیایی ۳۰ درجه و ۱۷ دقیقه و ۸ ثانیه قرار گرفته است. جهت تعیین خصوصیات خاک مزرعه، تا عمق ۳۰ سانتیمتری نمونه‌برداری صورت گرفت. خصوصیات فیزیکی و شیمیایی خاک مزرعه در جدول ۱ آمده است. میزان ماده آلی خاک ۰/۴۸ درصد، میزان نیتروژن ۰/۰۵ درصد و میزان آهن خاک ۳/۱۸ قسمت در میلیون بود (جدول ۱).

جهت انجام آزمایش ابتدا تعداد ۳۰۰ قلمه هم اندازه با قابلیت ریشه‌زایی در گلخانه باغ فتح آباد در آذرماه ۱۳۹۵ در بستر ماسه بادی کشت گردید. از میان ۳۰۰ قلمه کشت شده در گلخانه، تعداد ۱۴۴ قلمه یکسان، هم‌اندازه و ریشه‌دار جدا شده و بر اساس آزمایش فاکتوریل در قالب طرح بلوک کامل تصادفی در سه تکرار در مزرعه کشت شدند. تیمارها شامل کود اوره در چهار سطح شامل صفر (شاهد)، ۱۰۰، ۱۵۰ و ۲۰۰ کیلوگرم در هکتار و منابع مختلف کود آهن شامل عدم استفاده از کود آهن (شاهد)، سولفات آهن ۱۷ درصد، نانو کلات آهن ۹ درصد و کلات آهن اورتو ۴/۸ درصد در نظر گرفته شدند. سولفات آهن ۱۷ درصد به میزان ۱۰ کیلوگرم در هکتار، نانو کلات آهن ۹ درصد به میزان ۵ کیلوگرم در هکتار و کلات آهن اورتو ۴/۸ درصد به میزان ۱۰ کیلوگرم در هکتار به توصیه شرکت‌های سازنده (شرکت دانش بنیان صدور احرار شرق) استفاده گردید. پس از آماده سازی زمین و پیش از کشت، آبیاری سنگینی انجام گرفت و پس از آن در اول اردیبهشت‌ماه ۱۳۹۶ انتقال قلمه‌ها به مزرعه صورت پذیرفت.

با توجه به اینکه بافت خاک مزرعه آزمایشی لوم شنی (بافت متوسط) بود، مقادیر کود اوره در دو نوبت (۵۰ درصد در هنگام آماده‌سازی زمین جهت کشت و ۵۰ درصد باقیمانده در اواسط دوره رشد رویشی به صورت سرک) به کرت‌های آزمایشی اضافه شد. انواع کودهای آهن نیز در دو نوبت (۵۰ درصد بعد از کاشت و ۵۰ درصد باقیمانده در اواسط دوره رشد رویشی) استفاده گردید. کود سولفات آهن به صورت خاکی و کودهای نانوکلات آهن و کلات آهن اورتو به صورت کود آبیاری اعمال شدند. در طول دوره رشد وجین علف‌های هرز به صورت دستی انجام شد. برداشت سه ماه بعد از کاشت و در

1- Ethylenediamine-N, N'-bis 2-hydroxyphenylacetic acid

شروع گلدهی صورت گرفت. صفات مورد ارزیابی شامل ارتفاع گیاه، وزن تر برگ در بوته، وزن خشک برگ در بوته، تعداد شاخه اصلی و طول شاخه اصلی بود. برای اندازه‌گیری کلروفیل از روش پورا و همکاران (۴۵) استفاده گردید. مقدار ۰/۵ گرم نمونه برگ کاملاً خرد و با ۱۰ میلی‌لیتر استون ۸۰ درصد مخلوط شد. پس از سانتریفوژ میزان جذب (A) در طول موج‌های ۶۴۶/۶ و ۶۶۳/۶ نانومتر اسپکتروفتومتر ثبت گردید. میزان کلروفیل کل بر اساس معادله ۱ محاسبه شد:

جدول ۱- خصوصیات فیزیکی و شیمیایی خاک مزرعه محل آزمایش

Table 1- Physical and chemical properties of experimental soil

شماره آزمایشگاه Lab No.	26125
توضیحات نمونه Description	باغ فتح آباد Fath Abad Garden
اسیدیته pH	7.5
هدایت الکتریکی Ec x 1000 ms	11.91
نیتروژن N (%)	0.05
ماده آلی Organic matter (%)	0.48
فسفر قابل جذب Available Phosphorus (ppm)	22.4
پتاسیم قابل جذب Available Potassium (ppm)	670
آهن Fe (ppm)	3.18
رس Clay (%)	19
شن Sand (%)	54
لوم Silt (%)	27
بافت خاک Soil texture	شنی-لومی SA-L

(معادله ۱) کل کلروفیل $(mg\ ml^{-1}) = 16.76A_{646.6} - 6.34A_{663.6}$

استخراج اسانس به روش تقطیر با آب و با استفاده از دستگاه کلونجر صورت گرفت (۱۴). جهت تعیین میزان اسانس، مقدار ۵۰ گرم برگ خشک پودرشده به مدت ۱۸۰ دقیقه مورد اسانس‌گیری قرار گرفت. سپس جهت حذف رطوبت و آبگیری از اسانس مقداری سولفات سدیم خشک به اسانس‌ها اضافه شد و به این ترتیب اسانس‌ها برای انجام آزمایش‌های بعدی در شرایط خنک و تاریک داخل یخچال نگهداری شدند. بازده تولید اسانس بر حسب درصد وزنی/ وزنی با استفاده از معادله ۲ محاسبه شد (۳۶).

۱۰۰× (وزن خشک گیاه/وزن اسانس)=درصد اسانس
(معادله ۲)

به منظور جداسازی و شناسایی ترکیبات اسانس، از دستگاه کروماتوگرافی گازی متصل به طیف‌سنج جرمی (GC/MAS) مدل Thermo-UFM از نوع تله یونی مجهز به ستون HP-5 به طول ۳۰ متر و قطر ۰/۲۵ میلی‌متر و ضخامت لایه فاز ساکن ۰/۲۵ میکرومتر استفاده شد. برنامه‌ریزی حرارتی ستون از ۵۰ درجه سانتی‌گراد شروع شده و دمای نهایی ستون به ۳۰۰ درجه سانتی‌گراد رسید. دمای محفظه تزریق در ۲۶۰ درجه سانتی‌گراد و دمای دتکتور در ۳۰۰ درجه سانتی‌گراد تنظیم شد. دتکتور از نوع Mass بود و از گاز هلیوم به عنوان گاز حامل استفاده شد. شناسایی ترکیب‌های موجود در اسانس با استفاده از اندیس‌های بازداری کواتس و بررسی طیف‌های جرمی و مقایسه با طیف‌های جرمی پیشنهادی توسط کتابخانه‌های رایانه دستگاه کروماتوگراف گازی متصل به طیف‌سنج جرمی صورت گرفت (۱۵ و ۵۳).

جهت تجزیه و تحلیل داده‌های به دست آمده از نرم‌افزار آماری SAS (۵۰) و برای ترسیم نمودارها از نرم‌افزار Excel استفاده شد.

قبل از تجزیه و تحلیل داده‌ها تست نرمال بودن آن‌ها انجام شد و پس از اطمینان از حالت توزیع نرمال، نسبت به تجزیه و تحلیل آن‌ها اقدام گردید. میانگین‌های به دست آمده توسط روش LSD در سطح احتمال ۵ درصد مقایسه شدند.

نتایج و بحث

محتوای کلروفیل

نتایج حاصل از تجزیه واریانس داده‌ها نشان می‌دهد که سطوح مختلف اوره و انواع کود آهن بر صفت محتوای کلروفیل برگ معنی‌دار بوده اما اثر متقابل آنها معنی‌دار نیست (جدول ۲). از میان سطوح مختلف کود اوره، تیمار ۱۵۰ کیلوگرم در هکتار بیشترین محتوای کلروفیل (۲۹/۲۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر) و شاهد کمترین میزان محتوای کلروفیل (۱۵/۹۸ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر) را به خود اختصاص دادند. از بین انواع کود آهن، بیشترین محتوای کلروفیل به ترتیب مربوط به کلات آهن اورتو ، نانوکلات آهن و سولفات آهن بود و کمترین میزان به شاهد اختصاص داشت (جدول ۳).

نیتروژن جزء مهمی از مولکول کلروفیل را تشکیل می‌دهد و بدون وجود نیتروژن حلقه‌های پورفیرینی چهارطرف مولکول کلروفیل تشکیل نخواهد شد (۱۸). در نتیجه یکی از اثرات مهم عنصر نیتروژن در گیاهان، افزایش میزان کلروفیل در برگها می‌باشد. همانطور که در جدول ۳ نشان داده شده استفاده از سطوح مختلف کود اوره باعث افزایش معنی‌دار میزان کلروفیل برگ‌های گیاه به‌لیمو نسبت به شاهد شده است. نتایج این تحقیق با منابع دیگر نیز همخوانی دارد. شیخی و رونقی (۵۲) اثر سطوح مختلف نیتروژن (۰، ۷۵، ۱۵۰، ۲۲۵، ۳۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم خاک از منبع اوره) را بر غلظت کلروفیل اسفناج بررسی کردند و به این نتیجه رسیدند که با افزایش نیتروژن تا سطح ۲۲۵ میلی‌گرم در کیلوگرم خاک میزان کلروفیل افزایش یافت. عارفی و همکاران (۷) با بررسی اثر سطوح مختلف نیتروژن (۰، ۷۰، ۱۴۰، ۲۱۰) بر گیاه دارویی موسیر به این نتیجه رسیدند که افزایش نیتروژن در افزایش وزن خشک و میزان نسبی کلروفیل تأثیر معنی‌دار دارد. بر اساس گزارش بیسیدا (۱۲) با اعمال کود نیتروژن به میزان ۱۰۰، ۱۵۰ و ۲۰۰ کیلوگرم در هکتار بر گیاه گزنه در تیمار ۲۰۰ و۱۵۰ کیلوگرم در هکتار میزان عملکرد و کلروفیل افزایش یافت.

آهن از جمله عناصر ضروری برای رشد و تولیدمثل گیاهان بوده و در فرایند فتوسنتز، تنفس، جذب و ساخت نیتروژن و کلروفیل در گیاهان نقش دارد (۲۹). نقش این عنصر در تثبیت ازت و فعالیت برخی از آنزیمها نظیر کاتالاز، پراکسیداز و سیتوکروم اکسیداز به خوبی مورد بررسی قرار گرفته است (۳۵). ازآنجایی که شکل‌گیری کلروفیل بدون حضور آهن میسر نیست، کمبود یا غیرفعال شدن آهن در گیاهان سبب کاهش کلروفیل و در نتیجه کاهش رشد می‌شود (۶). بر اساس نتایج جدول ۳ استفاده از انواع کود آهن باعث افزایش معنی‌دار مقدار کلروفیل نسبت به شاهد شده است که نشان‌دهنده نقش آهن در سنتز کلروفیل می‌باشد. پیوندی و همکاران (۴۴) نیز با بررسی اثر کود آهن بر ریحان گزارش نمودند که کود آهن باعث افزایش محتوای رنگیزه‌های فتوسنتزی نسبت به شاهد شده است. افزایش کلروفیل باعث افزایش فتوسنتز و افزایش تولید فرآورده‌های فتوسنتزی و در نتیجه افزایش رشد رویشی، تعداد و طول شاخه و تعداد و سطح برگ می‌شود (۴۲).

صفات کمی

ارتفاع گیاه

بر اساس نتایج تجزیه واریانس، اثر ساده سطوح مختلف کود اوره و نوع کود آهن بر ارتفاع گیاه به‌لیمو در سطح یک درصد و اثر متقابل آنها در سطح ۵ درصد معنی‌دار شد (جدول ۲). مقایسه میانگین اثر ساده سطوح مختلف کود اوره نشان داد که ارتفاع گیاه در تیمار ۱۵۰ کیلوگرم در هکتار (۵۴/۰۴ سانتی متر) به طور معنی‌داری بیشتر از تیمار شاهد (۳۸/۳۴ سانتی‌متر) و سایر سطوح کوده اوره بود (جدول ۳). همچنین مقایسه میانگین اثر ساده نوع کود آهن نشان داد که کلات آهن اورتو ارتفاع بیشتری را نسبت به شاهد و سایر انواع کود آهن ایجاد نموده است (جدول ۳). بر اساس مقایسه میانگین اثر متقابل، استفاده توام ۱۵۰ کیلوگرم اوره و کلات آهن اورتو بیشترین ارتفاع (۶۸/۷۷ گرم) و تیمار شاهد کمترین ارتفاع (۳۴/۶۶ گرم) را در گیاه به‌لیمو تولید نمود (شکل ۱ الف).

وزن تر و خشک برگ در بوته

نتایج حاصل از تجزیه واریانس داده‌ها نشان داد که اثر ساده سطوح مختلف کود اوره و نوع کود آهن بر عملکرد وزن تر و وزن خشک برگ در بوته گیاه به‌لیمو در سطح یک درصد و اثر متقابل آن ها بر عملکرد وزن خشک برگ در بوته در سطح ۵ درصد معنی‌دار شد (جدول ۲). نتایج مقایسه میانگین اثر ساده سطوح مختلف کود اوره نشان داد که تیمار ۱۵۰ کیلوگرم در هکتار، بالاترین عملکرد وزن تر در بوته (۱۰۵/۵۶ گرم) و وزن خشک در بوته (۲۰/۰۸ گرم) و تیمار شاهد کمترین مقدار وزن تر در بوته (۷۰/۰۹ گرم) و وزن خشک برگ در بوته (۱۲/۲۶ گرم) را تولید نمودند (جدول ۳). عملکرد تر و خشک در بوته گیاه به‌لیمو در تیمارهای کودی ۱۰۰ و ۲۰۰ کیلوگرم در هکتار اوره نسبت به شاهد دارای افزایش معنی‌دار و نسبت به تیمار ۱۵۰ کیلوگرم در هکتار کاهش معنی‌دار داشتند. بر اساس نتایج حاصل از مقایسه میانگین اثر ساده نوع کود آهن، بیشترین عملکرد وزن تر در بوته (۱۰۲/۷۴ گرم) و وزن خشک در بوته (۱۸/۰۴ گرم) در تیمار کلات آهن اورتو و کمترین عملکرد آن‌ها در تیمار شاهد مشاهده شد

(جدول ۳). مقایسه میانگین اثرات متقابل نشان داد که بیشترین عملکرد وزن تر در بوته (۱۱۸/۲ گرم) و خشک در بوته (۲۲/۵۵ گرم) برگ به‌لیمو در تیمار ۱۵۰ کیلوگرم در هکتار اوره به همراه کلات آهن اورتو ایجاد شد. تیمار شاهد کمترین عملکرد وزن تر و خشک برگ در بوته را تولید نمود (شکل ۱ ب و ج).

تعداد شاخه اصلی و طول شاخه

نتایج حاصل از جدول تجزیه واریانس نشان داد که سطوح مختلف کود اوره و انواع کود آهن بر صفات تعداد شاخه اصلی و طول شاخه گیاه به‌لیمو در سطح یک درصد معنی‌دار بود. بررسی اثرات متقابل نشان داد که طول شاخه در سطح ۵ درصد معنی‌دار شد و تعداد شاخه اصلی تحت تاثیر اثر متقابل قرار نگرفت (جدول ۲). نتایج مقایسه میانگین سطوح مختلف کود اوره نشان داد که استفاده ار ۱۵۰ کیلوگرم اوره در هکتار بیشترین میزان طول شاخه (۴۲/۱۲ سانتی‌متر) و تعداد شاخه اصلی (۱۱/۱۴ عدد) را تولید نمود و شاهد در هر دو صفت با اختلاف معنی‌دار نسبت به سایر تیمارهای اوره کمترین میزان را دارا بود (جدول ۲). مقایسه میانگین اثر ساده انواع کود آهن نشان داد که بالاترین مقدار صفات مذکور به ترتیب مربوط به کلات آهن اورتو، نانوکلات آهن و سولفات آهن بود و کمترین مقدار مربوط به شاهد بود (جدول ۲). نتایج حاصل از مقایسه میانگین اثرات متقابل نشان‌دهنده این است که استفاده از ۱۵۰ کیلوگرم در هکتار اوره همراه با کلات آهن اورتو بالاترین تعداد شاخه اصلی و بیشترین طول شاخه را ایجاد نمود. تیمار شاهد در صفات مذکور کمترین مقادیر را دارا بود (شکل ۲).

مسلم است که رشد گیاه تحت تأثیر شرایط محیطی و اقلیم محل رویش قرار می‌گیرد. دسترسی به آب و عناصر غذایی ضروری، از طریق افزایش تعداد گره‌ها، برگها، ساقه‌ها و شاخه‌ها، رشد گیاه را تحت تأثیر قرار می‌دهد (۵۷).

همانطور که در مبحث کلروفیل توضیح داده شد نیتروژن و آهن باعث افزایش میزان کلروفیل برگ می‌شود. افزایش میزان کلروفیل، توانایی جذب نور خورشید را افزایش داده و مواد فتوسنتزی بیشتری به نقاط مختلف گیاه ارسال می‌گردد (۳۷). بر اساس نتایج مقایسه میانگین جدول ۳، به طور مشخص استفاده از سطوح مختلف کود اوره باعث افزایش معنی‌دار صفات مورد بررسی شامل ارتفاع گیاه، عملکرد وزن تر و خشک برگ در بوته، تعداد شاخه، طول شاخه و درصد اسانس به‌لیمو نسبت به شاهد شده است. این افزایش مرتبط با افزایش میزان کلروفیل و در نتیجه افزایش میزان فتوسنتز گیاه می‌باشد. همانطور که در شکل ۴ نشان داده شده است همبستگی مثبت و معنی‌داری بین میزان کلروفیل برگ‌های به‌لیمو و صفات مورد بررسی در سطح یک درصد وجود دارد که تاییدی بر تاثیر مثبت نقش افزایش میزان کلروفیل بر صفات اندازه‌گیری شده می‌باشد. مفاخری (۲۸) نیز همبستگی مثبت و معنی‌داری بین محتوای کلروفیل با درصد اسانس و سایر صفات رویشی گیاه دارویی شنبلیله گزارش کرد.

در ارزیابی صفات ارتفاع، عملکرد وزن تر و خشک برگ در بوته و تعداد و طول شاخه بر اساس نتایج جدول ۳، استفاده از کود اوره باعث افزایش مقدار این صفات نسبت به شاهد شده است. نیتروژن نقش موثری در نمو یاخته‌های جدید دارد و باعث افزایش رشد رویشی و تعداد شاخسارهای جانبی در گیاه می‌شود. کود نیتروژن نیاز گیاه را از لحاظ این عنصر غذائی تامین می‌کند و موجب افزایش فرآورده‌های فتوسنتزی و در نتیجه افزایش رشد رویشی، تعداد و طول شاخه و تعداد و سطح برگ می‌شود (۴۱). قادری و مقدم (۱۹) نیز گزارش نمودند که استفاده از کود نیتروژن باعث افزایش ارتفاع گیاه، تعداد شاخه جانبی و عملکرد زیره سبز می‌شود.

در تحقیق حاضر استفاده از انواع کود آهن همچنین باعث افزایش معنی‌دار صفات مورد مطالعه شامل ارتفاع ساقه، عملکرد وزن تر و خشک برگ در بوته، طول شاخه و تعداد شاخه‌ها در گیاه به‌لیمو نسبت به شاهد شده است. با توجه به شکل ۴ که همبستگی مثبت و معنی‌دار بین میزان کلروفیل و کلیه صفات مورد مطالعه مشاهده می‌شود میتوان نتیجه گرفت که یکی از عوامل افزایش رشد در تیمارهای کودی آهن افزایش کلروفیل می‌باشد. پیوندی و همکاران (۴۴) گزارش نمودند که استفاده از کود آهن باعث افزایش معنی‌دار پارامترهای رشد در گیاه ریحان نسبت به شاهد می‌شود که با نتایج این تحقیق همخوانی دارد. همچنین آلمالیوتس و همکاران (۵) گزارش کردند که یک رابطه خطی معنی‌دار بین غلظت آهن و عملکرد گیاه وجود دارد به طوری که در اثر مصرف آهن، مقدار کلروفیل، فتوسنتز و رشد رویشی گیاه افزایش یافته و این امر باعث افزایش سطح کربن‌گیری و در نتیجه میزان ماده خشک تولیدی در گیاه می‌گردد.

درصد اسانس

سطوح مختلف کود اوره، انواع کود آهن و اثر متقابل آنها بر میزان اسانس در سطح یک درصد اثر معنی‌دار داشتند (جدول ۲). تیمار ۱۵۰ کیلوگرم در هکتار کود اوره با ۱/۰۷ درصد بیشترین میزان اسانس و شاهد با ۰/۷۸ درصد کمترین میزان اسانس را تولید نمودند. از نظر تولید اسانس تیمارهای ۲۰۰ و ۱۰۰ کیلوگرم در هکتار اوره در رتبه‌های دوم و سوم قرار دارند. از میان کودهای آهن، به ترتیب کلات آهن اورتو (۱/۲۸ درصد)، نانوکلات آهن (۱/۱۵ درصد)، سولفات آهن (۰/۸۱ درصد) و شاهد (۰/۵۴ درصد) بیشترین تا کمترین میزان اسانس را تولید نمودند (جدول ۳). نتایج حاصل از مقایسه میانگین اثرات متقابل نشان‌دهنده این است که استفاده از ۱۵۰

کیلوگرم در هکتار اوره همراه با کلات آهن اورتو بالاترین میزان اسانس (۱/۳ درصد) را ایجاد نمود. تیمار شاهد با ۰/۳۸ درصد در صفت مذکور کمترین مقدار را دارا بود (شکل ۳ ب).

نتایج نشان داد که درصد اسانس گیاه به‌لیمو تحت تأثیر سطوح مختلف کود اوره نسبت به شاهد قرار گرفت و سطوح مختلف کود اوره باعث افزایش معنی‌دار درصد اسانس نسبت به شاهد شد (جدول ۳). مصرف کود نیتروژن از طریق مصرف مواد فتوسنتزی برای افزایش سطح برگ و تولید بیشتر ترکیبات اولیه و افزایش تعداد غدد ترشحی باعث افزایش درصد اسانس می‌شود (۴۲). نتایج آزمایش زینلی و همکاران (۵۸) و پشت‌دار و همکاران (۴۶) نشان دادند که استفاده از کود نیتروژن باعث افزایش عملکرد و درصد اسانس گیاه نعنا فلفلی شد که با نتایج این تحقیق همخوانی دارد.

بر اساس نتایج جدول ۳، کاربرد آهن باعث افزایش معنی‌دار درصد اسانس به‌لیمو نسبت به شاهد شده است. عوامل زیادی وجود دارد که سبب تغییر در کمیت اسانس در گیاهان دارویی می‌شود. یکی از آنها کاربرد عناصر غذایی است. گیاهان دارویی در طول دوره رشد برای تولید مناسب اسانس و مواد مؤثره به میزان کافی عناصر ریزمغذی نیاز دارند به طوری که تأمین این عناصر، میزان و عملکرد اسانس را تا حد زیادی افزایش می‌دهد (۵۱). اسانس‌ها از گروه شیمیایی ترپن‌ها هستند و یا منشا ترپنی دارند. فتوسنتز و تولید فرآورده‌های فتوسنتزی رابطه مستقیمی با تولید اسانس نشان می‌دهد. گلوکز به عنوان پیش‌ماده مناسب برای تامین NADPH و ATP در ساخت اسانس به ویژه مونوترپن‌ها عمل می‌کند (۱۶). تثبیت دی‌اکسید کربن، ساخت متابولیت‌های اولیه و سوخت و ساز ساکارز ارتباط نزدیکی با تجمع اسانس در گیاهان دارد. به دلیل نقش آهن در افزایش توان فتوسنتزی و پیش‌سازهای ترکیب‌های فنولی مورد نیاز در ساخت اسانس‌ها میزان اسانس در نتیجه کاربرد این عنصر بهبود می‌یابد (۱۶). مقدم و همکاران (۳۲) افزایش عملکرد اسانس ریحان مقدس، ناطقی و همکاران (۳۸) افزایش درصد اسانس گیاه آنیسون و رستمی و همکاران (۴۸) افزایش درصد و عملکرد اسانس گیاه گشنیز را تحت تیمار آهن نسبت به شاهد گزارش نمودند که با نتایج تحقیق حاضر در مورد به‌لیمو مطابقت دارد.

جدول ۲- تجزیه واریانس صفات مورد مطالعه به‌لیمو تحت تأثیر سطوح مختلف کود اوره و منابع مختلف کود آهن

Table 2- ANOVA for the studied traits of Lemon Verbena affected by different levels of urea and iron fertilizer resources

					MS میانگین مربعات			
منبع تغییرات S.O.V	درجه آزادی df	ارتفاع Height	وزن تر برگ در بوته Leaf fresh weight per plant	وزن خشک برگ در بوته Leaf dry weight per plant	تعداد شاخه اصلی Number of main branch	طول شاخه اصلی Main branch length	کلروفیل Chlorophyll	اسانس Essential oil
تکرار Replication	2	69.67ns	979.49*	10.01*	4.55**	42.19*	10.55ns	0.046*
سطح اوره Urea level	4	519.10**	2810.99**	129.90**	19.80**	198.12**	448.32**	0.725**
نوع آهن Type of iron	3	499.97**	1499.34**	44.58**	54.58**	438.06**	375.45**	5.326**
اوره×آهن Urea×Iron	3	75.00*	130.14ns	7.78*	1.31ns	35.05*	6.93ns	0.041**
خطا Error	9	29.86	287.00	2.84	0.83	14.63	3.94	0.009
ضریب تغییرات CV		11.55	18.65	10.03	9.15	11.73	8.73	5.00

*،** و ns به ترتیب معنی‌دار در سطح احتمال ۵ درصد،۱ درصد و عدم معنی‌داری.

*,**, ns: Significant at 5% and 1% probability level and no significant, respectively.

جدول ۳- مقایسه میانگین اثرات ساده بر صفات مورد مطالعه به‌لیمو تحت تأثیر سطوح مختلف کود اوره و منابع مختلف کود آهن

Table 3- Mean comparison of simple effects different levels of urea and iron fertilizer resources on the studied traits of Lemon Verbena

فاکتور Factor	سطح Level	ارتفاع Height (cm)	وزن تر برگ در بوته Leaf fresh weight per plant (g)	وزن خشک برگ در بوته Leaf dry weight per plant (g)	تعداد شاخه اصلی Number of main branch	طول شاخه اصلی Main branch length	کلروفیل Chlorophyll (mg ml^{-1})	اسانس Essential oil (%)
کود اوره Urea fertilizer	شاهد (0) control	38.34^{c}	70.09^{c}	12.26^{c}	8.16^{c}	33.74^{c}	15.98^{d}	0.78^{c}
	100	47.42^{b}	89.16^{b}	17.18^{b}	10.53^{ab}	41.28^{ab}	19.12^{c}	0.95^{b}
	150	54.04^{a}	105.56^{a}	20.08^{a}	11.14^{a}	43.12^{a}	29.20^{a}	1.07^{a}
	200	49.32^{b}	98.56^{ab}	17.76^{b}	10.09^{b}	39.03^{b}	26.38^{b}	0.99^{b}
منبع کود آهن Sources of iron fertilizer	شاهد (0) control	40.59^{b}	75.86^{c}	13.96^{b}	7.63^{d}	33.18^{c}	16.30^{d}	0.54^{d}
	سولفات آهن Iron sulfate	44.07^{b}	93.80^{b}	17.91^{a}	8.82^{c}	35.91^{c}	20.46^{c}	0.81^{c}
	نانو کلات Nano chelate	50.18^{a}	90.88^{b}	17.36^{a}	11.18^{b}	41.22^{b}	24.90^{b}	1.15^{b}
	کلات اورتو Ortho-chelate	54.28^{a}	102.74^{a}	18.04^{a}	12.30^{a}	46.84^{a}	29.27^{a}	1.28^{a}

در هر ستون میانگین‌های که حرف (حروف) مشترک دارند داری تفاوت معنی‌دار آماری با استفاده از آزمون LSD در سطح احتمال ۵ درصد نیستند.

Means in each column followed by same letter(s) are not significantly different based on LSD test at 5% of probability level..

ترکیبات شیمیایی اسانس برگ

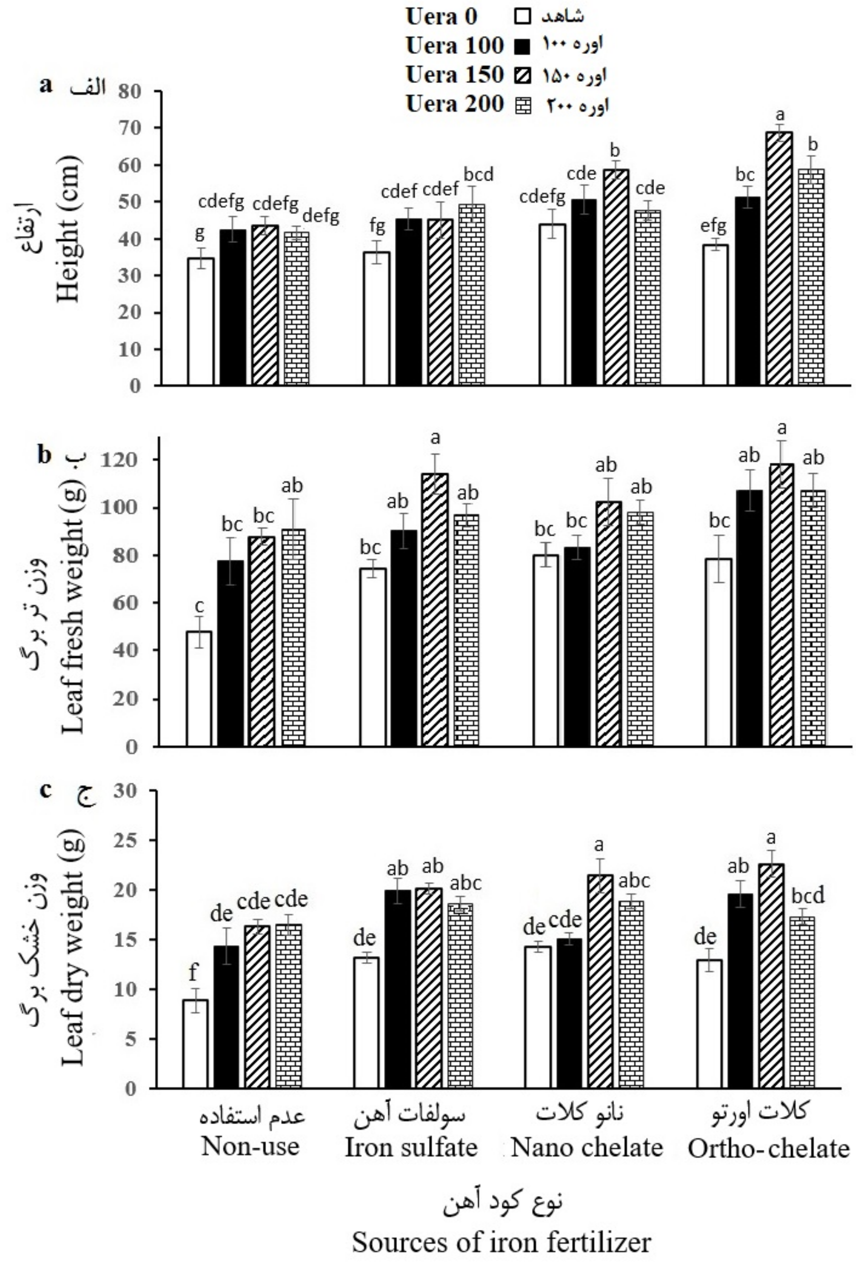
در ارزیابی کیفیّت اسانس برگ پس از آنالیز دستگاهی با دستگاه کروماتوگرافی گازی متصل به طیف‌سنج جرمی (GC/MAS)، تعداد ۲۰ ترکیب در اسانس به‌لیمو شناسایی شدند که در مجموع بیش از ۸۵ درصد از کل اجزا را به خود اختصاص دادند (جدول ۴). چهار ترکیب ژرانیال، نرال، لیمونن و ۱،۸- سینئول به ترتیب اجزای غالب در اسانس بودند. سیترال (به مجموع دو ترکیب نرال و ژرانیال اصطلاحاً سیترال گفته می‌شود) به عنوان ترکیب اصلی اسانس به‌لیمو به عنوان طعم دهنده داروها و همچنین در صنایع عطر و ادکلن سازی کاربرد فراوانی دارد (۸، ۲۲). نتایج نشان داد که از نظر ترکیب ستیرال، تیمار شاهد (بدون مصرف کود اوره و آهن) کمترین مقدار (۳۳/۸ درصد) را دارا بود. از طرف مقابل بالاترین میزان مربوط به ترکیب تیماری ۱۵۰ کیلوگرم کود اوره و کلات آهن اورتو (۴۴/۹ درصد) می‌باشد (جدول ۴).

عوامل محیطی در تولید و تجمع متابولیت‌های ثانویه گیاهان دارویی نقش مهمی دارند از جمله میزان عناصر غذایی و خصوصیات خاک به ویژه درصد نیتروزن خاک، میزان ماده آلی، ریزمغذی‌ها و بافت خاک که بر اسانس تأثیر می‌گذارند (۳۰ و ۳۹). همچنین کاهش محتوای کلروفیل در اثر شرایط محیطی بر ساخت متابولیت‌ها از جمله کمیت و کیفیت اسانس اثر منفی می‌گذارد (۲۴).

به‌طور کلی، آن چه در رابطه با اجزای تشکیل‌دهنده یک اسانس دارای اهمیّت است ترکیبات اصلی می‌باشند که بیشترین درصد اسانس را تشکیل می‌دهند. از میان۲۰ ترکیب شناسایی شده در اسانس (جدول ۴) سیترال به عنوان ترکیب اصلی دارای کاربرد گسترده‌ای در صنایع مختلف است و شاخص و ارزش دارویی و صنعتی گیاه به‌لیمو وابسته به آن می‌باشد (۸). ترکیبات مذکور فعالیت ضد میکروبی قوی و اثرات فرومونی بر حشرات دارند و به عنوان معطر کننده به برخی روغن‌ها اضافه می‌شود (۲۳، ۲۷ و ۴۳).

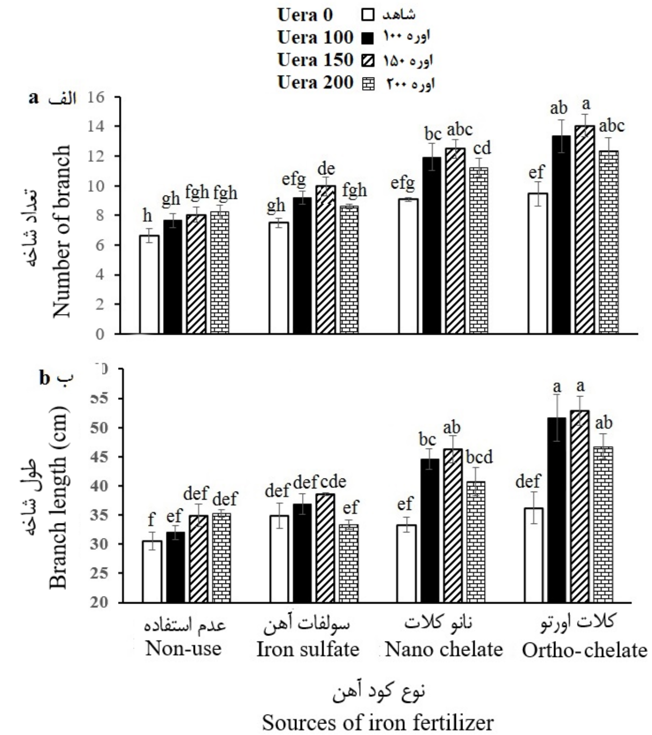
بر اساس نتایج جدول ۴ از نظر میزان سیترال، از بین انواع کود آهن، کلات آهن اورتو با میانگین ۴۳/۲ درصد، کود نانوکلات آهن با میانگین ۴۱/۳ درصد و کود سولفات آهن با میانگین ۳۷ درصد و شاهد (بدون مصرف کود آهن) با میانگین ۳۵/۳ درصد به ترتیب بیشترین تا کمترین میزان را به خود اختصاص داده بودند. از بین سطوح مختلف کود اوره به ترتیب تیمار ۱۵۰ کیلوگرم در هکتار با میانگین ۴۰/۵ درصد، تیمار ۲۰۰ کیلوگرم در هکتار با میانگین ۴۰/۰ درصد، تیمار ۱۰۰ کیلوگرم در هکتار با میانگین ۳۹/۱ و شاهد با میانگین ۳۷/۱ درصد بیشترین تا کمترین میزان سیترال را تولید نموده‌اند. بررسی اثر متقابل نشان داد که بالاترین میزان سیترال مربوط به ترکیب تیمار کودی ۱۵۰ کیلوگرم اوره همراه با کلات آهن اورتو (T12) (۴۴/۹ درصد) و کمترین درصد مربوط به تیمار شاهد

(T1) (۳۳/۸ درصد) است (جدول ۴). زارع و همکاران (۵۷) گزارش نمودند که بیشترین اجزاء اسانس گیاه به‌لیمو ژرانیال و نرال است که تیمار شاهد کمترین و تیمار استفاده متعادل از کود بیشترین میزان این ترکیبات را به خود اختصاص داده است. در مطالعات دیگر نیز مهم‌ترین ترکیبات اسانس برگ گیاه به‌لیمو ژرانیال و نرال گزارش شده (۳۱ و ۵۷) که با نتایج این پژوهش مطابقت دارد. در مورد علت افزایش میزان اسانس و ترکیبات نرال و ژرانیال در اثر افزایش مصرف کود اوره، می‌توان اظهار داشت که اسانس‌ها ترکیب‌هایی ترپنوئیدی بوده که واحدهای سازنده آنها نیاز مبرم به NADPH و ATP دارند و حضور نیتروژن برای تشکیل ترکیب‌های اخیر ضروری است (۴ ، ۳۳ و ۵۵).



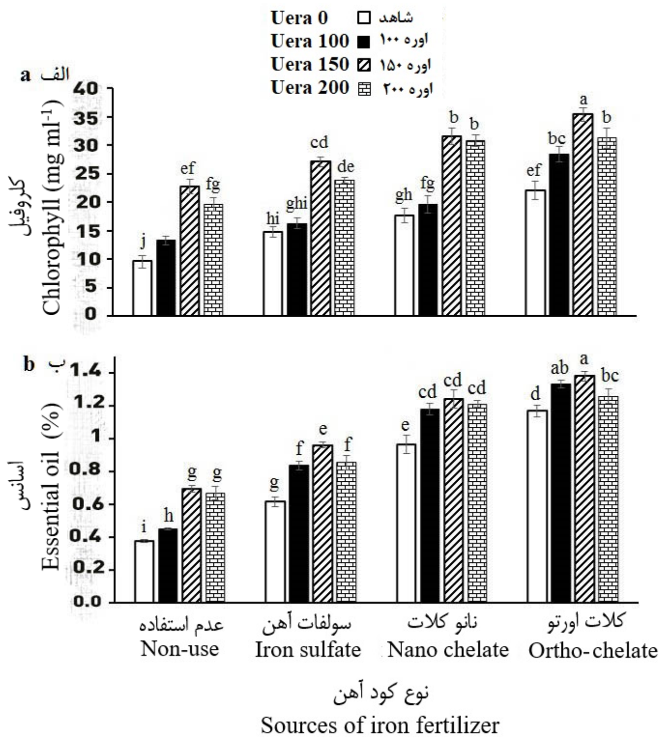
شکل ۱- مقایسه میانگین اثرات متقابل سطح کود اوره×نوع کود آهن بر ارتفاع (الف)، وزن تر برگ در بوته (ب) و وزن خشک برگ در بوته (ج) گیاه به‌لیمو

Figure 1- Mean comparison of interaction effects, urea fertilizer level×type of iron fertilizer, on height (a), leaf fresh weight per plant (b) and leaf dry weight per plant (c) of Lemon Verbena (LSD, *p≤0.05*)



شکل ۲- مقایسه میانگین اثرات متقابل سطح کود اوره×نوع کود آهن بر تعداد شاخه اصلی (الف) ، طول شاخه (ب) گیاه به‌لیمو

Figure 2- Mean comparison of interaction effects, urea fertilizer level×type of iron fertilizer, on number of main branch (a), branch length (b) of Lemon Verbena (LSD, *p≤0.05*)



شکل ۳- مقایسه میانگین اثرات متقابل سطح کود اوره×نوع کود آهن بر محتوای کلروفیل (الف) و درصد اسانس (ب) برگ به‌لیمو

Figure 3- Mean comparison of interaction effects, urea fertilizer level×type of iron fertilizer, on chlorophyll content (a) and the percentage of essential oil (b) in leaf of Lemon Verbena (LSD, *p≤0.05*)

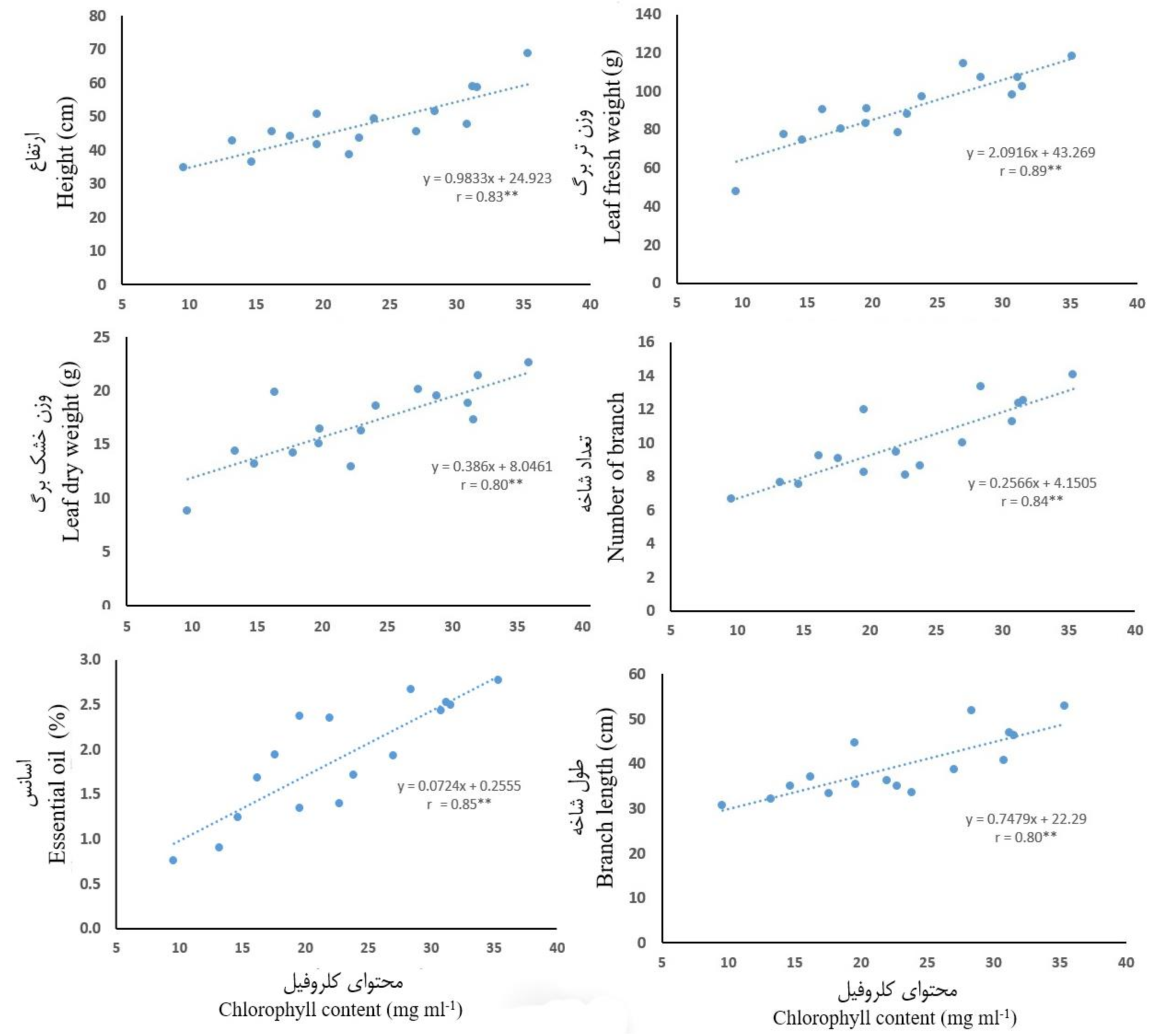
جدول ٤- ترکیبات تشکیل‌دهنده اسانس گیاه به‌لیمو تحت ترکیبات تیماری سطوح کود اوره و نوع کود آهن

Table 4- The compounds of Lemon Verbena essential oil under the combination of urea fertilizer and sources of iron fertilizer

ردیف No.	نام ترکیب Compounds	شاخص بازداری Retention index	T16	T15	T14	T13	T12	T11	T10	T9	T8	T7	T6	T5	T4	T3	T2	T1
1	α-pinene	982	0.7	0.8	0.6	0.6	0.6	0.5	0.6	0.3	0.7	0.7	0.5	0.2	0.5	0.6	0.3	0.5
2	Sabinen	984	0.3	0.4	0.1	0.2	0.3	0.1	0.1	0.2	0.4	0.2	0.1	0.1	0.1	0.1	0.2	0.1
3	β-pinene	934	6.2	5.3	3.9	3.6	7.0	3.8	2.9	2.6	5.1	4.9	3.3	3.1	4.0	4.1	2.7	2.8
4	Limonene	1032	10.6	14.0	13.6	12.7	11.7	11.6	12.4	13.6	12.9	12.1	11.1	11.8	11.0	13.1	10.0	12.9
5	1,8-cineol	1111	10.4	9.6	8.2	8.4	10.0	6.1	7.1	5.7	9.2	8.8	6.3	5.9	6.4	8.5	6.0	7.8
6	Trans-Limonene oxide	1140	0.6	0.4	0.3	0.6	0.6	0.6	0.3	0.3	0.4	0.7	0.3	0.3	0.7	0.3	0.3	0.3
7	Linalool	1155	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5
8	Terpinen-4-ol	1189	1.8	1.7	1.5	1.6	1.9	1.5	1.4	1.5	1.9	1.5	1.3	1.3	1.4	1.5	1.4	1.5
9	α-Terpineol	1199	1.5	1.5	1.5	1.5	1.5	1.5	1.7	1.5	1.5	1.5	1.6	1.5	1.5	1.5	1.6	1.6
10	Neral	1235	14.5	15.4	17.3	17.7	15.3	16.5	18.1	19.2	16.4	16.8	18.7	19.9	15.7	16.7	18.2	18.9
11	Geranial	1259	19.3	20.0	21.7	22.6	20.0	20.8	22.6	24.1	20.3	21.0	24.6	25.1	20.0	21.0	24.1	25.5
	Citral*		44.4	42.3	37.6	35.7	44.9	43.3	37.8	36.7	43.3	40.8	37.2	35.2	40.3	39.0	35.4	33.8
12	α-Copaene	1399	2.8	2.9	2.3	2.7	1.9	4.9	2.8	4.1	3.1	2.6	3.1	3.3	4.7	3.2	3.9	3.0
13	β-Bourbonene	1408	1.4	1.4	1.5	1.5	1.5	1.5	1.3	1.5	1.5	1.4	1.4	1.5	1.4	1.4	1.4	1.4
14	Z-β-caryophyllene	1465	2.3	2.3	2.2	2.2	2.2	2.2	2.0	2.2	2.2	2.3	2.3	2.2	2.3	2.3	2.3	2.1
15	γ-Gurjunene	1472	0.0		0.1		0.0	0.2	0.1	0.1		0.1	0.1	0.1	0.2	0.1	0.1	0.1
16	E- β-caryophyllene	1481	1.9	1.9	1.8		1.8	1.8	1.8	1.8	1.8	1.9	1.9	1.8	1.9	1.9	1.9	
17	Allo-aromadendrene	1490	4.6	4.0	2.7	2.6	3.4	4.9	3.2	4.4	3.8	2.8	3.7	3.5	5.1	3.8	4.6	2.0
18	β –Guaiene	1541	0.4	0.2	0.1		0.5	1.0		0.9	0.2		0.5	0.6	0.9	0.1	0.9	0.1
19	Spathulenol	1640	2.1	2.3	2.2	2.6	2.0	3.4	2.3	2.2	2.2	2.7	1.8	1.7	3.5	2.3	2.3	2.2
20	Caryophyllene oxide	1699	2.5	2.2	3.7	4.6	2.6	3.6	3.5	2.6	2.3	4.4	2.3	2.5	3.4	3.5	2.4	3.6
	Total		85.5	85.1	85.3	84.2	86.2	86.1	86.5	85.0	85.9	84.5	86.3	84.6	85.7	84.7	86.2	86.2

T1: عدم تیمار کودی (شاهد) Control	T2: اوره 0–سولفات آهن Urea 0-iron sulfat	T3: اوره 0–نانوکلات Urea 0-nano chelate	T4: اوره 0–کلات اورتو Urea 0-ortho-chelate
T5: اوره 100–عدم آهن Urea 100-non iron	T6: اوره 100–سولفات آهن Urea 100-iron sulfat	T7: اوره 100–نانوکلات Urea100-nano chelate	T8: اوره 100–کلات اورتو Urea 100-ortho-chelate
T9: اوره 150–عدم آهن Urea 150 non iron	T10: اوره 150–سولفات آهن Urea150-iron sulfat	T11: اوره 150–نانوکلات Urea 150-nano chelate	T12: اوره 150–کلات اورتو Urea 150-ortho-chelate
T13: اوره 200–عدم آهن Urea 200-non iron	T14: اوره 200–سولفات آهن Urea 200-iron sulfat	T15: اوره 200–نانوکلات Urea 200-nano chelate	T16: اوره200–کلات اورتو Urea 200-ortho-chelate

* به مجموع دو ترکیب ژرانیال و نرال اصطلاحاً سیترال گفته می‌شود.



شکل ٤- همبستگی بین محتوای کلروفیل برگ با صفات کمی و کیفی گیاه به‌لیمو

Figure 4- The correlation between leaf chlorophyll content with quantitative and qualitative traits of Lemon Verbena

از طرف دیگر عنصر آهن به عنوان کوفاکتور برای فعالیت NADPH و ATP در متابولیسم نیتروژن عمل می‌نماید (۵۶). بنابراین افزایش جذب نیتروژن و آهن توسط گیاه موجب افزایش میزان اسانس برگ و ترکیبات نرال و ژرانیال شده است (۹ و ۱۱).

همبستگی کلروفیل با سایر صفات

در این مطالعه همبستگی مثبت و معنی‌داری در سطح یک درصد بین محتوای کلروفیل برگ‌ها و صفات رویشی مورد مطالعه ملاحظه شد. همچنین بین محتوای کلروفیل و درصد اسانس همبستگی مثبت و معنی‌داری در سطح یک درصد ملاحظه شد (شکل ۴).

نتیجه‌گیری

با اینکه استفاده از کود اوره باعث افزایش معنی‌دار کلیه صفات نسبت به شاهد شده است از بین سطوح مختلف کود اوره، تیمار ۱۵۰ کیلوگرم در هکتار بیشترین مقدار را در کلیه صفات داشت. استفاده از ۲۰۰ کیلوگرم در هکتار کود نیتروژن باعث کاهش مقادیر در کلیه صفات نسبت به تیمار ۱۵۰ کیلوگرم در هکتار شده است. کاربرد بیش از اندازه کود نیتروژن می‌تواند نتیجه عکس دهد. در مجموع تاثیر سطوح مختلف کود اوره بر صفات رویشی، عملکرد و درصد اسانس گیاه به‌لیمو به ترتیب از بیشترین به کمترین شامل ۱- ۱۵۰ کیلوگرم در هکتار اوره، ۲- ۲۰۰ کیلوگرم در هکتار اوره، ۳- ۱۰۰ کیلوگرم در هکتار اوره و ۴- شاهد می‌باشد (جدول ۳). به طور کلی کود آهن باعث افزایش صفات در به‌لیمو می‌شود اما در مجموع بیشترین تأثیر به ترتیب مربوط به کلات آهن اورتو، نانو کلات آهن و سولفات آهن می‌باشد (جدول ۳). در میان منابع کودهای آهن، کودهای کلات شده با EDDHA و با درصد اورتو-اورتو بالا، دارای حلالیت بالایی بوده و می تواند تضمین کننده جذب آهن توسط ریشه باشد (۱۰). به همین

دلیل کود کلات آهن اورتو تـأثیر بیشـتری در صـفات مـورد بررسـی داشت.

در نهایت نتایج این تحقیق نشـان داد کـه اسـتفاده تـوام از ۱۵۰ کیلوگرم در هکتار اوره با کلات آهن اورتو بالاترین مقادیر را در تولیـد صفات ارتفاع گیاه، تعداد و طول شاخه، عملکرد وزن تر و خشک برگ در بوته، درصد اسانس و کیفیت اسانس به‌لیمو داشته است. در ارزیابی کیفی اسانس به‌لیمو مشخص شد که دو ترکیب ژرانیال و نرال اجزای غالب در اسانس بوده و بالاترین میزان این ترکیبات در ترکیـب تیمـار کودی ۱۵۰ کیلوگرم اوره همراه با کلات آهن اورتو مشاهده گردید.

منابع

1- Aghazadeh D., Mehrafarin A., Abdossi V., and Naghdi Badi H. 2015. Mucilage and seed yield of psyllium (*Plantago psyllium* L.) in response to foliar application of nano-iron and potassium chelate fertilizer. Journal of Medical Plants 4(56): 23-34. (In Persian with English abstract)

2- Alavi L., Jabari A., Barzegar M., and Naghdibadi M. 2008. Chemical components and antioxidant effect of *Lippia citriodora* and *Thymus* sp. essential oil. p. 1-6. Proceedings of the18th National Congress on food Sciences, 15-17 October 2008. Mashhad, Iran. (In Persian with English abstract)

3- Ali H.F.M., El-Beltag H.S., and Nasr N.F. 2008. Assessment of volatile components, free radical scavenging capacity and anti-microbial activity of Lemon Verbena leaves. Research Journal of Phytochemistry 2(2): 84-92.

4- Allen J.F. 2002. Photosynthesis of ATP-electrons, proton pumps, rotors, and poise. Cell, 110(3): 273-276.

5- Almaliotis D., Velemis D., Bladenopoulou S., and Karapetsas N. 2000. Leaf nutrient levels of strawberries (cv. Tudla) in relation to crop yield, IV International Strawberry Symposium 567, pp. 447-450.

6- Anderson W., and Parkpian P. 1984. Plant availability of an iron waste product utilized as an agricultural fertilizer on calcareous soil. Journal of Plant Nutrition 7(1-5): 223-233.

7- Arefi I., Kafi M., Khazaee H.R., and Banayan Aval M. 2012. Effect of nitrogen phosphorous and potassium fertilizer levels on yield, photosynthetic rate photosynthetic pigments, chlorophyll content, and nitrogen concentration of plant components of *Allium altissimum* Regel. Journal of Agroecology 4(3): 207-214. (In Persian with English abstract)

8- Argyropoulou C., Akoumianaki-Ioannidou A., Christodoulakis N.S., and Fasseas C. 2010. Leaf anatomy and histochemistry of *Lippia citriodora* (Verbenaceae). Australian Journal of Botany 58(5): 398-409.

9- Asghari M., Yosefirad M., and Masoumi Zavarian A. 2016. Effects of Organic Fertilizers of Compost and Vermicompost on Qualitative and Quantitative Triats of Lemon Verbena. Journal of Medicinal Plants 2 (58): 63-71. (In Persian with English abstract)

10- Ashmead S.D. 2001. The chemistry of ferrous bis-glycinate chelate. Archivos latinoamericanos de nutricion 51(1): 07-12.

11- Barroso M.R., Arrobas M., Rodrigues M.Â., and Sousa M.J. 2014. Effect of nitrogen, phosphorus, potassium and boron fertilizers on essential oils yield in Lemon verbena (*Aloysia triphylla*). Planta Medica, 80(16): P2F1.

12- Biesiada A. 2003. Effect of manure and nitrogen fertilization on yielding and chemical composition of stinging nettle (*Urtica dioica* L.). Folia Horticulturae 15(1): 131-38.

13- Colombo C., Palumbo G., He J.Z., Pinton R., and Cesco S. 2014. Review on iron availability in soil: interaction of Fe minerals, plants, and microbes. Journal of Soils and Sediments 14(3): 538-548.

14- Craveiro A.A., Matos F.J.A., and de Alencar J.W. 1976. A simple and inexpensive steam generator for essential oils extraction. Journal of Chemical Education 53(10): 652.

15- Davies N.W. 1990. Gas chromatographic retention indices of monoterpenes and sesquiterpenes on methyl silicon and Carbowax 20M phases. Journal of Chromatography A 503:1-24.

16- Dubey V.S., Bhalla R., and Lithra R. 2003. Sucrose mobilization in relation to essential oil biogenesis during palmarosa (*Cymbopogon martini* Roxb. WATS. Var. motia) inflorescence development. Boisciences 28(4): 479-487.

17- Ebadi M.T., Azizi M., Sefidkon F., and Ahmadi N. 2016. Effect of organic and chemical fertilizers on leaf yield, essential oil quality and quantity of *Lippia citriodora*. Journal of Horticultural Science 30(2): 203-302. (In Persian with English abstract)

18- Fiedor L., Kania A., Myśliwa-Kurdziel B., Orzeł Ł., and Stochel G. 2008. Understanding chlorophylls: central magnesium ion and phytyl as structural determinants. Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Bioenergetics 1777(12): 1491-1500.

19- Ghaderi Y., and Moghaddam M. 2015. Effect of different levels of plant density and N fertilizer on yield and yield components of cumin. Journal of Plant Ecophysiology 23: 104-112. (In Persian with English abstract)

20- Ghannadnia M., Haddad R., Zarinkamar F., and Sharifi M. 2011. Different expression of limonene synthase gene in organs and developmental stages of cumin (*Cuminum cyminum* L.). Iranian Journal of Medicinal and Aromatic Plants 27(3): 495-508. (In Persian with English abstract)

21- Gomes P.C.S., Oliveira H.R.C., Vicente A.M.S., and Ferreira M.F. 2006. Production, transformation and essential oils composition of leaves and stems of Lemon Verbena [*Aloysia triphylla* (L'Herit.) Britton] grown in Portugal. Revista Brasileira de Plantas Medicinais 8: 130-135.
22- Habashi M., Mirza M., Mostofi Y., and Jaimand K. 2009. Identification and comparison of the essential oil components from the peel of citron (*Citrus medica* L.) by using two extraction methods (hydrodistillation and cold press). Iranian Journal of Medicinal and Aromatic Plants 24(4): 428-436. (In Persian with English abstract)
23- Hapke C., Kirchert J., Dickler E., and Zebitz C.P. 2001. Combination of pheromone and an additive for the control of codling moth, Cydia pomonella. IOBC wprs Bulletin 24(2): 37-42.
24- Hatamian M., Arab M., and Roozban M.R. 2014. Photosynthetic and nonphotosynthetic pigments of two rose cultivars under different light intensities. Journal of Crops Improvement (Journal of Agriculture) 16(2): 259-70. (In Persian with English abstract)
25- Jafari F., Golchin A., and Shafiei S. 2014. The effects of nitrogen and foliar application of iron amino chelate on yield and growth indices of dill (*Anethum graveolans* L.) medical plant. Journal of Science and Technology of Greenhouse Culture 5(1):1-12. (In Persian with English abstract)
26- Jones Jr J.B. 2012. Plant nutrition and soil fertility manual. CRC press.
27- Kizil S., and Tonçer Ö. 2016. Essential Oil and Microelement Composition of Thymus citriodorus L. and *Lippia citriodora* HBK. Cercetari Agronomice in Moldova 49(2): 97-105.
28- Mafakheri S. 2017. Effect of Some Organic and Chemical Fertilizers on Morphological and Biochemical Factors of Fenugreek (*Trigonella foenum-graecum* L.). Journal of Plant Production 40(3): 27-40. (In Persian with English abstract)
29- Marschner H. 2012. Marschner's mineral nutrition of higher plants. Academic press, 651 P.
30- Mehrbani M., Mahdavi Meymand Z., Khandanizadeh B., and Hassan Abadi N. 2015. Effect of different levels of nitrogen fertilizer and harvest time on the quantity and quality of essential oil and total phenol content in *Satureja hortensis* L. Eco-phytochemical Journal of Medicinal Plants 2(4): 1-11. (In Persian with English abstract)
31- Meshkatalsadat M.H., Papzan A.H., and Abdollahi A. 2011. Determination of bioactive volatile organic components of *Lippia citriodora* using ultrasonic assisted with headspace solid phase microextraction coupled with GC-MS. Digest. Journal of Nanomaterials and Biostructures 6(1): 319-323.
32- Moghaddam E., Mahmoodi Sourestani M., Farrokhian Firozi A., Ramazani Z., and Eskandari F. 2015. The effect of foliar application of iron chelate type on morphological traits and essential oil content of holy basil. Journal of Crops Improvement 17(3): 595-606. (In Persian with English abstract)
33- Mojab F., Javidnia K., Zarghi A., and Yamohammadi M. 2002. Essential oil of *Lippia Citriodora* H.B.K. (Verbenaceae). Journal of Medicinal Plants 4(4): 41-46. (In Persian with English abstract)
34- Muñoz-Huerta R.F., Guevara-Gonzalez R.G., Contreras-Medina L.M., Torres-Pacheco I., Prado-Olivarez J., and Ocampo-Velazquez R.V. 2013. A review of methods for sensing the nitrogen status in plants: advantages, disadvantages and recent advances. Sensors 13(8): 10823-10843.
35- Nagajyoti P., Lee K., and Sreekanth T. 2010. Heavy metals, occurrence and toxicity for plants: a review. Environmental Chemistry Letters 8(3): 199-216.
36- Najad Habib Vash F., Mahdavi Kia H., ToFigureh S., Ali Mohammadian M., Amirfathi G., and Panahi S.h. 2017. Study of the plant growth stages effect on the color, content and composition of essential oil of *Achillea wilhelmsii* C. Koch. Case Study: Qushchi Ghat in West Azerbaijan province. Eco-phytochemical Journal of Medicinal Plants 5(3): 47-63. (In Persian with English abstract)
37- Nasiri Y., Zehtab Salmasi S., Nasrullah Zadeh S., Ghassemi Gholezani K., Najafi N., and Javanmard A. 2015. Evaluation of Foliar Spray of Ferrous Sulfate and Zinc Sulfate on Yield and Nutrients Concentration of Aerial Parts in German Chamomile. Journal of Agricultural Science and Sustainable Production 33(3): 105-115. (In Persian with English abstract)
38- Nateghi Sh., Pirzad A., and Darvishzadeh R. 2015. Effect of Fe and Zn fertilizers on yield and yield components of Pimpenella anison. Journal of Horticultural Science 29(1): 37-46. (In Persian with English abstract)
39- Noroozi V., Yousefzadeh S., Asilan K., and Mansourifar S. 2017. Investigating the variation of essential oil content, chlorophyll, carotenoid, anthocyanin and flavonoid of (*Mentha longifolia* (L.) Hods. subsp. Longifolia) in several habitats of Marand. Eco-phytochemical Journal of Medicinal Plants 5(1): 52-66. (In Persian with English abstract)
40- Ombito J.O., Salano E.N., Yegon P.K., Ngetich W.K., and Mwangi E.M. 2014. A review on the chemistry of some species of genus *Lippia* (Verbenaceae family). Journal of Scientific and Innovative Research 3(4): 460-466.
41- Omidbeigi R., and Arjmandi A. 2001. Effects of NP supply on growth, development, yield and active substances of garden thyme (*Thymus vulgaris* L.), International Conference on Medicinal and Aromatic Plants. Possibilities and Limitations of Medicinal and Aromatic Plant, Budapest, Hungary, Jul 8-11 July 2001, p. 263-265.
42- Omidbeigi R. 2011. Production and Processing of Medicinal Plants. Behnashr Press. (In Persian)
43- Onawunmi G.O. 1989. Evaluation of the antimicrobial activity of citral. Letters in Applied Microbiology 9(3): 105-108.

44- Peyvandi M., Mirza M., and Kamali Jamakani Z. 2011. The Effect of Nano Fe Chelate and Fe Chelate on the Growth and Activity of some Antioxidant. New Cellular and Molecular Biotechnology Journal 2(5): 25-32. (In Persian with English abstract)

45- Porra R., Thompson W., and Kriedemann P. 1989. Determination of accurate extinction coefficients and simultaneous equations for assaying chlorophylls a and b extracted with four different solvents: verification of the concentration of chlorophyll standards by atomic absorption spectroscopy. Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Bioenergetics 975(3): 384-394.

46- Poshtdar A., Abdali Mashhadie A.R., Moradi F., Siadat S., and Bakhshandeh A. 2016. Effect of source and rate of nitrogen fertilizer on yield and water and nitrogen use effeciency of peppermint. Iranian Journal of Crop Sciences 18(1): 13-31. (In Persian with English abstract)

47- Rangel C., Baptista Neto J.A., Fonseca E.M., McAlister J., and Smith B.J. 2011. Study of heavy metal concentration and partitioning in the Estrela River: implications for the pollution in Guanabara Bay-SE Brazil. Anais da Academia Brasileira de Ciências 83(3): 801-816.

48- Rostami B., Asilan K.S., Yousefzadeh S., and Mansorifar S. 2017. Effect of foliar application of iron and zinc sulfate on quantitative traits and essential oil yield of coriander. Iranian Journal of field Crop Science 48(2): 517-525. (In Persian with English abstract)

49- Saeid Nezhad A., and Rezvani Moghaddam P. 2010. Effect of Biofertilizers and Chemical Fertilizers on Morphological Properties, Yield, Yield Components and Essence Percentage of Cumin (*Cuminum cyminum*). Journal of Horticulture Science 24(1): 38-44. (In Persian with English abstract)

50- SAS Institute. 2004. SAS/Stat User's Guide, Version 9.1.2 SAS Institute, Cary, NC.

51- Shabanzadeh S.H., Ramroudi M., and Galavi M. 2011.The effect of foliar application of micronutrients on yield and qualitative characteristics of (*Nigella sativa* L.) in different irrigation regimes. Journal of Crop Protection and Processing 1(2): 79-89. (In Persian with English abstract)

52- Sheikhi J., and Ronaghi A. 2013. Influence of nitrogen and salinity levels on yield, nitrogen uptake, nitrate concentration and chlorophyll content of spinach and some properties of post-harvest soil in a calcareous soil. e Journal of Science and Technology of Greenhouse Culture (4):1-12. (In Persian with English abstract)

53- Shibamoto T. 1987. Retention indices in essential oil analysis in: Sandra P., Bicchi C.(eds)," Capillary Gas Chromatography in Essential Oils Analysis". Heuthig Verlag, New York, 435p.

54- Sifola M.I., and Barbieri G. 2006. Growth, yield and essential oil content of three cultivars of basil grown under different levels of nitrogen in the field. Scientia Horticulturae 108(4): 408-413.

55- Temple S.J., Vance C.P., and Gantt J.S. 1998. Glutamate synthase and nitrogen assimilation. Trends in Plant Science 3(2): 51-56.

56- Vanoni M.A., and Curti B. 2008. Structure–function studies of glutamate synthases: A class of self-regulated iron-sulfur flavoenzymes essential for nitrogen assimilation. IUBMB life 60(5): 287-300.

57- Zare A.A., Malakouti M.J., Bahrami H.A., Sefidkon F., and Shahhosseini R. 2015. Effect of balanced fertilization, biofertilizers and superabsorbent polymer on the yield and chemical compound characteristics of lemon verbena (*Lippia citriodora* H.B.K.). Iranian Journal of Medicinal and Aromatic Plants 30(6): 999-1011. (In Persian with English abstract)

58- Zeinali H., Hosseini H., and Shirzadi M.H. 2014. Effects of nitrogen fertilizer and harvest time on agronomy, essential oil and menthol of *Mentha piperita* L. Iranian Journal of Medicinal and Aromatic Plants 30(3): 486-495. (In Persian with English abstract)

Journal of Horticultural Science
Vol. 34, No.1, Spring 2020, P. 45-59
ISSN: 2008 - 4730

نشریه علوم باغبانی (علوم و صنایع کشاورزی)
جلد ۳۴، شماره ۱، بهار ۱۳۹۹، ص. ۵۹-۴۵
شاپا: ۴۷۳۰ - ۲۰۰۸

The Effect of Different Levels of Urea and Iron Fertilizer Resources on Yield and Quality of Lemon Verbena (*Lippia citriodora* H. B. K.)

M. Heidarzadeh[1]- Gh. Zarei[2]*- A. Morovvati[3]

Received: 13-02-2019
Accepted: 04-03-2020

Introduction: Lemon verbena (*Lippia citriodora* H. B. k.) is a valuable medicinal plant because of the essential oils, such as neral and garanial, which are used in the pharmaceutical, food, cosmetic and sanitary industries. In different industries, using essential oil of medicinal plants depends on the chemical composition, which is influenced by environmental factors, harvest time and farming methods.

Materials and Methods: This experiment was conducted to investigate the effect of different levels of urea fertilizer and several iron fertilizers on yield and quality of lemon verbena at Fathabad garden of Kerman in 2017. The plants were planted based on factorial experiment in format of a randomized complete block design with three replications. Different levels of urea fertilizer (0, 100, 150 and 200 kg ha^{-1}) and different sources of iron fertilizers included non-use, iron sulfate, nano iron chelate and ortho-chelate iron, were considered in four levels. The measured traits included plant height, fresh and dry weight of leaf per plant, number of branch, chlorophyll content and essential oil quantity and quality. Essential oil extraction was carried out using water distillation method using Clevenger's apparatus and identification of essential oil compounds was performed by gas chromatography–mass spectrometry (GC/MAS). The data were subjected to variance analysis using SAS software and means comparison were done with LSD at 5% level.

Results and Discussion: The results showed that different levels of urea and various iron sources had significant effect on all traits. Treatment with 150 kg ha^{-1} urea had the highest effect on measured traits compared to control. Among the types of iron sources, ortho-chelate iron had highest effect on quantity and quality compared to other iron sources and control. Generally, 150 kg ha^{-1} urea in combination with ortho-chelate iron produced the highest quantitative and qualitative yield. The same trend was observed in chlorophyll (35 mg/ml) and oil content (1.3%). In this study, a significant positive correlation was observed between chlorophyll content of leaves with vegetative traits and essential oil, which confirmed the positive effect of chlorophyll content on measured traits. Evaluation of quality of the leaves, 20 chemical compositions were detected in essential oils that were more than 85 percent of the total components. The neral and geranial were the predominant compounds in essential oils and the lowest levels of these compounds were observed in control (33.8%) and the highest levels were observed in the combination of 150 kg ha^{-1} urea with nano iron chelate (44.9%). The essential oils are terpenoid compositions that their constructive units need to NADPH and ATP, thus the presence of nitrogen is essential for the formation of these compounds. Moreover, iron acts as a cofactor for NADPH and ATP activity in nitrogen metabolism. Therefore, the increase in nitrogen and iron absorption by the plant has increased the content of essential oil. Due to the fact that geranial and neral are the most important compounds used in the essential oil of lemon verbena in various industries, especially pharmaceutical industry. The results of this experiment can be used to increase the quantity and quality of lemon verbena.

Conclusion: The current study demonstrated that different levels of urea and various iron sources had a significant effects on all traits. Generally, 150 kg ha^{-1} urea in combination with ortho-chelate iron produced the highest quantitative and qualitative yield. A significant positive correlation was observed between chlorophyll content of leaves with vegetative traits and essential oil. Twenty chemical compositions were detected in essential oils that the neral and geranial were the most predominant compounds.

Keywords*:* Essential oil, Geranial, Iron chelate, Neral, Nitrogen

1, 2 and 3- Graduated M.Sc. in Agronomy, Assistant Professor and Instructor, Department of Agronomy, Maybod Branch, Islamic Azad University. Maybod, Iran, respectively.
(*- Corresponding Author Email: zareigholamreza@gmail.com)